

BRCA1 と DNA 損傷応答

セドキーナ・アンナ, 福田 貴代, 太田 智彦

BRCA1 は変異によって家族性乳がんや卵巣がんが生じるがん抑制遺伝子で、タンパク質レベルでの機能不全が散発性乳がんの原因ともなる。予後の悪い基底様 (Basal-like) 乳がんを生じる一方、*BRCA1* 機能不全は化学療法の治療標的としても重要である。遺伝子産物はゲノムの恒常性維持に必須で、主要な機能に DNA 相同組換え修復、細胞周期チェックポイント、転写制御、アポトーシス、中心体複製制御、X 染色体不活性化、ヘテロクロマチン形成があり、生化学的には N 末端に RING フィンガードメインを有する E3 ユビキチンリガーゼである。本総説ではこれらの機能の中から DNA 損傷応答を中心に、一部著者らの知見を紹介しながら概説する。

1. はじめに

DNA は紫外線や放射線などの環境要因と活性酸素や DNA 複製に伴う異常などの内的要因により、様々なタイプの損傷を受ける。内的要因による損傷は 1 日に 1 細胞あたり 10^5 回ほどの頻度で生じると予想されている。これに対して細胞は多様な修復機構を駆使して DNA を修復するが、損傷の激しい場合にはチェックポイント機構で細胞周期を停止することで十分な修復の時間を確保し、また修復不能な場合はアポトーシスを誘導してゲノムの恒常性を保っている。DNA 損傷の中でも最も細胞に対する毒性が強いのが DNA 二本鎖切断 (double-strand break: DSB) で、その修復機構としては相同組換え修復 (homologous recombination: HR または homology-directed repair: HDR)、非同相末端再結合 (non-homologous end-joining: NHEJ)、代替非同相末端再結合 (alternative non-homologous end-joining: alt-NHEJ)、一本鎖アニーリング (single-strand annealing: SSA) という四つの経路があるが、このうち最も配列のエラーが起こりにくいのが HR で、S 期および G2 期に姉妹

染色分体を鋳型として修復が行われる。G1 期は主に両断端をそのまま直接つなげる NHEJ で修復される¹⁾。何らかの原因で HR が機能しない場合は NHEJ, alt-NHEJ, SSA で修復される機会が増えるが、特に alt-NHEJ, SSA はエラーが起こりやすい修復である。*BRCA1* (Breast Cancer Susceptibility Gene 1) の変異による乳がんや卵巣がんなど、HR 不全によるゲノム不安定性はがんの原因として非常に重要であるとともに、非がん遺伝子中毒 (non-oncogene addiction) (後述) を利用した化学療法においても注目されている。修復、チェックポイントおよびアポトーシスのシグナルは相互に連携しており、その中心的役割を果たすタンパク質の一つが *BRCA1* である。

2. *BRCA1* の構造と基本的な結合タンパク質

1990 年, King らによって早期発症の家族性乳がんの原因となる遺伝子が 17 番染色体の長腕に存在することがわかり²⁾, 1994 年に三木らが変異によって家族性乳がんや卵巣がんが生じる遺伝子として *BRCA1* をクローニングした³⁾。*BRCA1* は 1863 アミノ酸からなるタンパク質で、N 末端の RING フィンガードメイン、C 末端の BRCT ドメインおよび中央の大半を占めるエキソン 11 の領域から構成される (図 1)。家族性乳がんおよび卵巣がんの原因となるミスセンス変異が RING ドメインと BRCT ドメインに集中することからこの両ドメインが機能上重要であることがわかる。N 末端の RING フィンガードメインは構造的に *BRCA1* と類似する *BARD1* (*BRCA1* associated RING do-

聖マリアンナ医科大学大学院医学研究科応用分子腫瘍学
(〒216-8511 川崎市宮前区菅生 2-16-1)

BRCA1 and DNA damage response

Anna Sedukhina, Takayo Fukuda and Tomohiko Ohta (Department of Translational Oncology, St. Marianna University Graduate School of Medicine, 2-16-1, Sugao, Miyamae-ku, Kawasaki 216-8511, Japan)

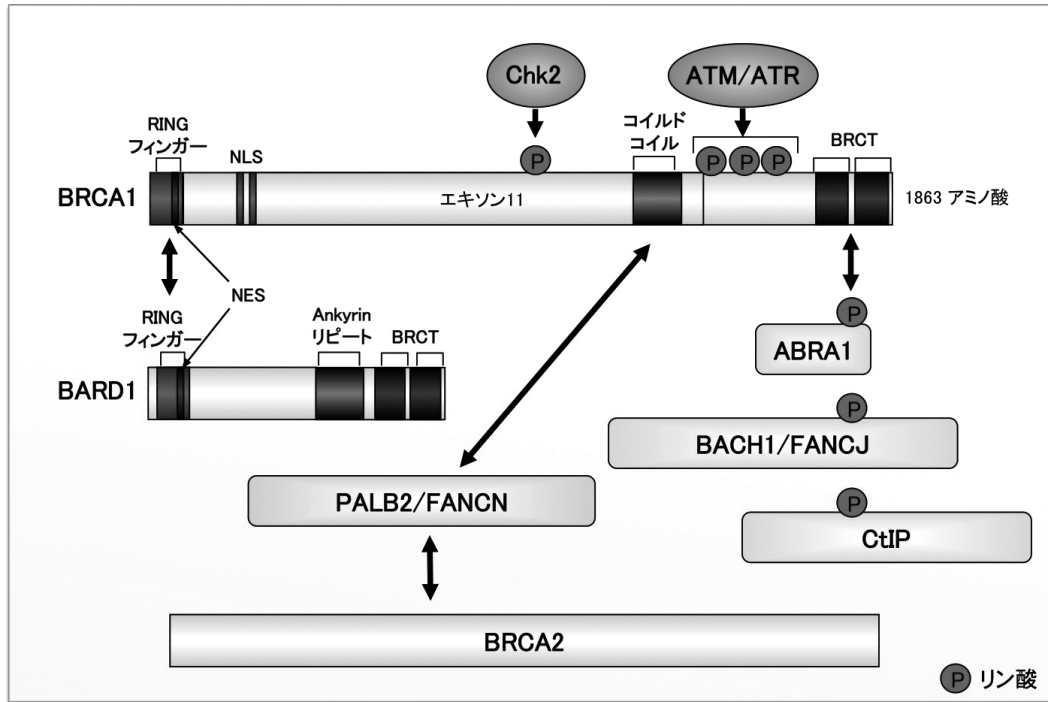


図1 BRCA1のドメイン構造と結合タンパク質

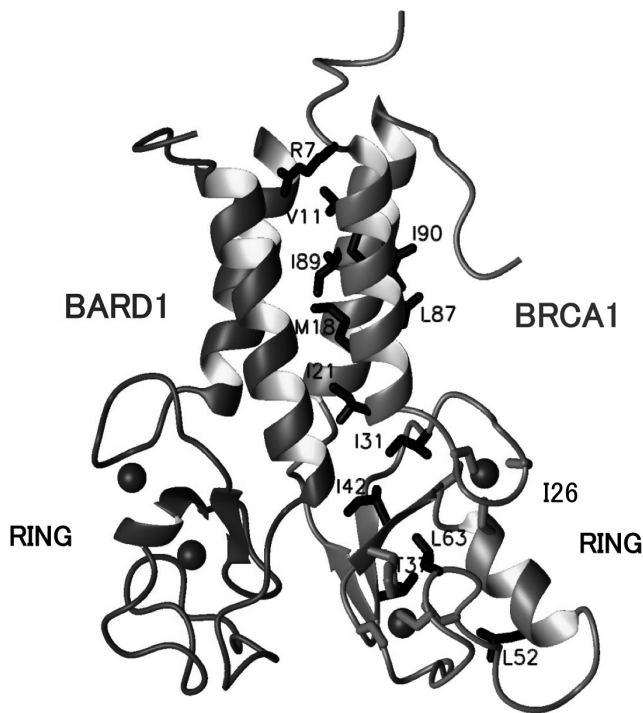


図2 BRCA1-BARD1 RING 二量体の結晶構造 (米国ワシントン大学 Peter S. Brzovic 博士と Rachel E. Klevit 博士の御厚意による)

main 1) と結合し、RING 二量体型のユビキチンリガーゼ (E3) を形成する⁴⁾ (図2)。BRCA1 と BARD1 の RING フィンガードメインはそれぞれ二つのヘリックス束を有し⁵⁾,

この部分に核外移行シグナル (nuclear exporting signal: NES) が存在するが、両タンパク質のヘリックス束同士が結合して安定した二量体が形成されると NES はマスクされ、核内へと誘導される⁶⁾。一方、C 末端の BRCT ドメインはリン酸化タンパク質と結合するドメインで^{7,8)}、結合するリン酸化タンパク質としては ABRA1 (Abraxas), BACH1 (FANCD1, BRIP1) および CtIP が知られていて、これらのタンパク質との複合体は BRCA1-A, B, C 複合体と呼ばれている⁹⁾。一方、BRCA2 との結合はエキソン 11 の C 末端寄りに存在するコイルドコイルドメインに結合する PALB2 (FANCD1) を介して行われる¹⁰⁾。BRCA1 タンパク質のほとんどは BARD1 と結合してコア複合体を形成し、それぞれの機能に応じて BRCT を介した A, B, C 複合体および BRCA2 との複合体を形成している¹¹⁾。

3. DNA 損傷応答における BRCA1 の役割

BRCA1 は DNA 損傷修復、チェックポイント、アポトーシス、転写、中心体複製、X 染色体不活性化、ヘテロクロマチン形成と多彩な機能を通して DNA の恒常性を維持するケアテカー型のがん抑制遺伝子である。DNA 損傷修復に関しては、BRCA1 は DSB 修復、DNA 複製後修復 (post-replication repair: PRR) および DNA 鎖間架橋形成修復 (interstrand cross-link repair: ICLR) における HR で働くことが明らかになっている。ここでは DSB 修復、PRR およびチェックポイントにおける役割について述べる。

1) DNA 二本鎖切断 (DSB) での役割

DSB 修復時の HR 経路で働く BRCA1 の機能は BRCA1 の複合体ごとにその役割を考える必要がある。現在わかっている複合体の機能としては BRCA1-CtIP (C 複合体) による DSB 損傷断端の 5' 末端切除による一本鎖 DNA 形成, BRCA1-ABRA1-RAP80 (A 複合体) による一本鎖の長さの調節, BRCA1-PALB2 によってリクルートされる BRCA2-RAD51 複合体によるストランド侵入の三つが重要である (図 3)。RAD51 は相同鎖検索機能を有する大腸菌 RecA のホモログで, DNA 損傷断端の一本鎖 DNA に結合して RAD51 フィラメントを形成し, 姉妹染色分体の相同部位へと誘導する。

DSB が生じると, まずセンサーとして MRE11-RAD50-NBS1 (MRN) 複合体と ATM (ataxia-telangiectasia-mutated) がリクルートされ, CtIP を介して MRN に結合した BRCA1-C 複合体が MRE11 のヌクレアーゼ活性を促進して DNA 一本鎖を形成する¹²⁾。同時にヒストン H2A バリエーションである γ H2AX の ATM によるリン酸化 (γ H2AX と呼ばれる) が引き金となり, BRCA1-A 複合体がリクルートされる。G1 期では CtIP は 53BP1 によって抑制され, DSB は主に Ku70/Ku80 を介した NHEJ によって修復されるが, S 期では CtIP の Ser327 残基がリン酸化され, これに結合した BRCA1 が 53BP1 の働きを抑えることによって HR に必要な十分な長さの DNA 一本鎖形成が生じると考えられている¹³⁾。

BRCA1-A 複合体が DSB 局所に集積するメカニズムは非常に詳細に明らかにされている (図 4)。ATM によって生じた γ H2AX のリン酸化部位に ATM リン酸化配列である SQ リピートを有する MDC1 が結合し, さらに ATM による MDC1 のリン酸化が起こる。このリン酸化に RING 型 E3 である RNF8 が結合し, 損傷局所の γ H2AX および H2A を基質として Lys63 結合型のユビキチン鎖 (K63 鎖) が形成される^{14,15)}。この反応には RNF8 とユビキチンキャリアタンパク質 E2 である Ubc13 の会合因子として HERC2 が¹⁶⁾、また Ubc13 に結合して反応を抑制する因子として OTUB1 が同定されている¹⁷⁾。形成された K63 鎖はユビキチン結合モチーフ (ubiquitin-interacting motif: UIM) を有する RING 型 E3, RNF168 をリクルートし, RNF168 によって局所の K63 鎖はさらに増幅され^{18,19)}、やはり UIM リピート配列を有する RAP80 を含む BRCA1-A 複合体が誘導される^{9,20~22)}。BRCA1-A 複合体の構成因子として RAP80, ABRA1, BRCA1, BARD1, NBA1, BRE, BRCC36 が存在することがわかっている²³⁾。このように BRCA1-A 複合体が DSB 局所に集積するメカニズムの要点が明らかになった一方, その意義については判然としない点が多かったが, 役割の一つとして, BRCA1-C 複合体の機能を抑え, 必要以上の DNA 一本鎖形成および HR を抑制する機能が報告された^{24,25)}。

一方, 相同組換え修復の中心的な反応である BRCA2-RAD51 複合体によるストランド侵入には先行する BRCA1

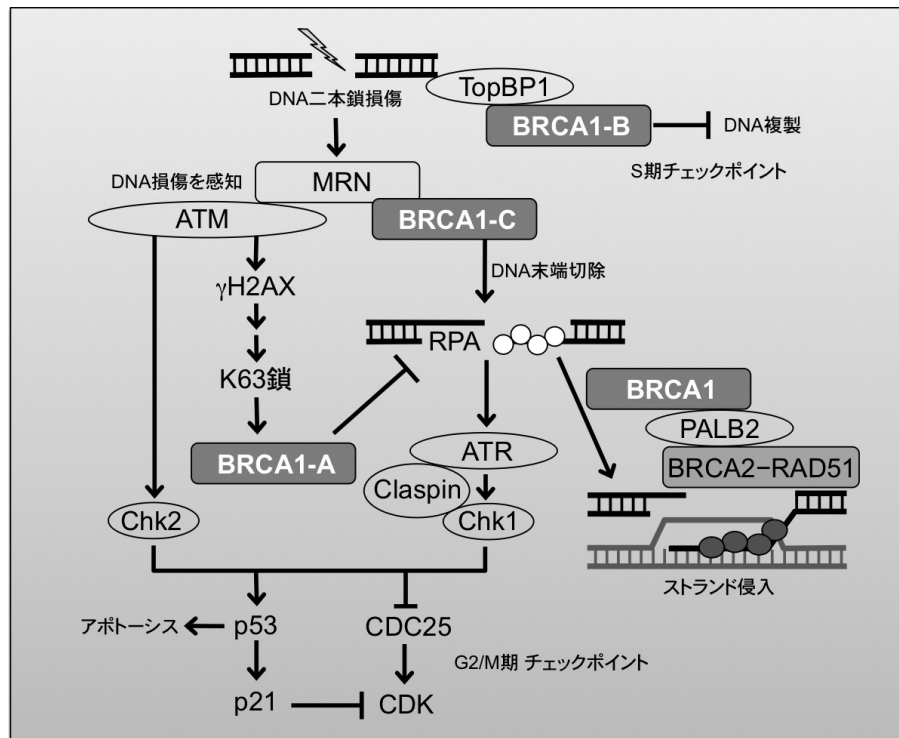


図 3 DNA 二本鎖切断における BRCA1 複合体の役割

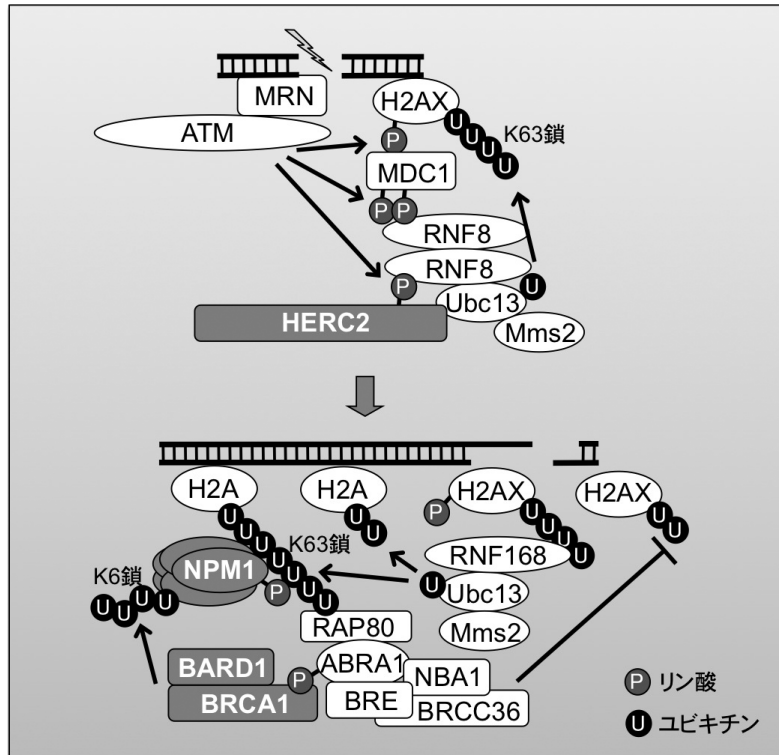


図4 RNF8/RNF168に触媒されるポリユビキチン K63 鎖による BRCA1-A 複合体の DNA 損傷局所への誘導

の局所への集積が必要であり、PALB2の仲介によってBRCA2がリクルートされる^{10,26)}(図3)。BRCA2には中央にBRCリピートと呼ばれる八つの繰り返し配列があり、これを通して複数のRAD51を損傷局所に誘導する²⁷⁾。PALB2が結合するBRCA1がBRCA1-A, B, C複合体のいずれなのか、あるいは他の複合体なのかはわかっていない。

最近、ATMは特にヘテロクロマチンのDSB修復で重要な役割を果たしていることが報告されており²⁸⁾、上記のBRCA1機能のうちの一部はATMとともにヘテロクロマチンでの修復に特化した機能であることも考えられる。

2) 複製後修復 (PRR) での役割

DSBに対するHRでの役割とは別にBRCA1はPRRでも重要な役割を果たしていることが最近報告された²⁹⁾。PRRは、塩基除去修復 (base excision repair: BER) やヌクレオチド除去修復 (nucleotide excision repair: NER) などの一本鎖損傷修復経路で取り除くことのできないCPD (cyclobutane pyrimidine dimer) などのDNA損傷に対して、S期にDNA複製にともなう行われる修復で、これまでにわかっていた経路はRAD6-RAD18によるPCNAのモノユビキチン化が引き金となっておこる損傷乗り換え修復と、Rad5 (ヒトではSHPRH, HLTF)-Ubc13-Mms2によるさらなるPCNAのK63鎖ポリユビキチン化によりRAD51がリクルートされてHRによって修復される経路であっ

た¹⁾。これに対してPathaniaらは紫外線によるCPD生成によって停止したDNA複製フォークが引き金となり、BRCA1が損傷局所にリクルートされ、①RFC (replication factor C) の局所への誘導と一本鎖DNA形成およびそれに結合するRPA (replication protein A) の集積が起こり、②ERCC1/XPFによるCPDの除去が行われ、③TLS (translesional synthesis) ポリメラーゼによる損傷乗り越え修復が抑制されることを示した²⁹⁾。BRCA1の局所への誘導はBRCTドメイン依存的に生じ、RFCとRPAの誘導はそれぞれPRRとイントラS期チェックポイントを活性化した。一本鎖DNA形成にはCtIPが必要で、機能の一部はBRCA1-C複合体が関与している可能性が高いが、CtIPを抑制してもBRCA1の局所への誘導が阻害されないことから、局所への集積には他の因子が関わっていると考えられる。複製フォークに局在するTopBP1 (DNAトポイソメラーゼ2結合タンパク質) と結合するBACH1が関与する可能性も考えられる。NERの構成因子であるERCC1/XPFが一本鎖DNAでどのように働くのかなど、不明な点も多く、今後さらに詳細なメカニズムの解明が期待される。

3) チェックポイントでの役割

BRCA1がチェックポイントにおいて重要な機能を果たしていることはチェックポイントキナーゼであるATMとの関係から明らかとなった。BRCA1はATMの基質であるとともに足場タンパク質として他のATMの基質のリン

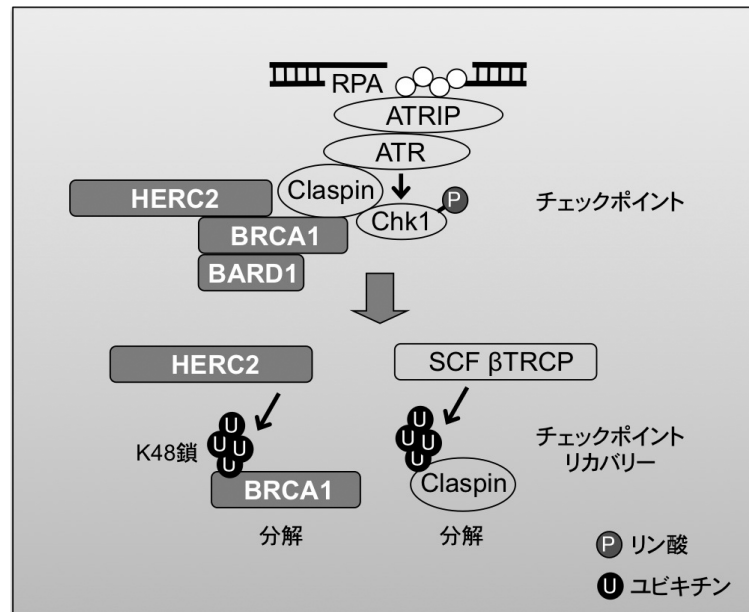


図5 HERC2によるチェックポイント制御のモデル図

酸化に重要である^{30,31)}。一方、紫外線などによる一本鎖損傷からDNA複製停止が生じた際には主にATR (ATM-related) によるBRCA1のリン酸化が生じる³²⁾。ATMおよびATRはS1423を含む複数のBRCA1上のSQ配列を認識しリン酸化する(図1)。G2/M期チェックポイントでは中心的な役割を果たすキナーゼであるChk1のリン酸化および活性化にBRCA1が必要だが³³⁾、どのようにしてBRCA1がChk1を制御するのかはまだ判然としていない。BRCA1-C複合体によって形成された一本鎖DNAに結合したRPAによるATRの活性化という間接的な作用(図3)に加えて、ATRによるChk1のリン酸化に必要な足場タンパク質であるClaspinsにBRCA1が結合してこの反応を促進することが報告されている³⁴⁾(図5)。

もう一つのBRCA1によるチェックポイント制御機構として複製ストレスに対するBRCA1-B複合体の関与がわかっている(図3)。BRCA1-B複合体のBACH1はDNA複製とチェックポイント制御で働いているTopBP1と結合しており³⁵⁾、BRCA1、BACH1、TopBP1の欠損はいずれも放射線照射後のS期の減速を阻害する。そのメカニズムとして、DNA損傷後にこの複合体によって複製起点(origin)のライセンス因子であるCDC45が複製起点から除去されることが報告されている³⁵⁾。また、DNA損傷によるClaspinsとChk1の結合およびATRによるChk1のリン酸化はTopBP1に依存していることから³⁶⁾、ここでもBRCA1-B複合体が関与していることが考えられる。

著者の研究室ではBRCA1に結合してチェックポイントを制御する因子としてHERC2を同定した。HERC2はBRCA1依存的にClaspinsとも結合し、DNA複製速度を調節する。HERC2は528 kDa、4834 アミノ酸の巨大タンパ

ク質でC末端にHECTドメインを有するE3である。前述したDSBに対するK63鎖によるBRCA1-A複合体リクルート経路(図4)において、RNF8とUbc13の結合を仲介してK63鎖生成を促進し、下流のHR経路に必須なタンパク質として報告されたが¹⁶⁾、同じ頃、著者らはBRCA1免疫複合体の質量分析計によるスクリーニングにてBRCA1をユビキチン化するE3としてHERC2を同定した³⁷⁾。

HERC2はS期にBRCA1、PCNA、TopBP1とともに複製フォークに局在し、免疫沈降にてBRCA1およびClaspinsとの結合が認められる^{37,38)}。BRCA1との結合はHERC2のC末端とBRCA1のRINGドメイン近傍のdegronと呼ばれる分解に重要なドメインを介して行われる。BRCA1はBARD1と結合した状態では安定で、BARD1と解離すると不安定になることがわかっていたが^{34,39)}、HERC2はこの時にBRCA1を分解するE3で、HERC2を抑制した細胞ではBARD1を抑制してもBRCA1は安定していた³⁷⁾。逆にBARD1はHERC2によるBRCA1のユビキチン化を阻害した。著者らは、HERC2はクロマチン上でBRCA1-BARD1と複合体を形成しており、BARD1が解離したときにBRCA1を分解に導くものと考えている。BARD1の発現を抑制するとBRCA1が不安定化し、DNA損傷後のS期あるいはG2/M期チェックポイント活性が阻害されて細胞はM期へと移行するが、この際にHERC2の発現を同時に抑制するとBRCA1は安定化し、チェックポイント活性は回復する³⁷⁾。これらの結果からHERC2はDNA損傷部位に集積し、HR経路での役割を果たすと同時に損傷修復後にBRCA1を分解してチェックポイントから細胞周期へのリカバリーに働くというモデルが考えられる(図5)。

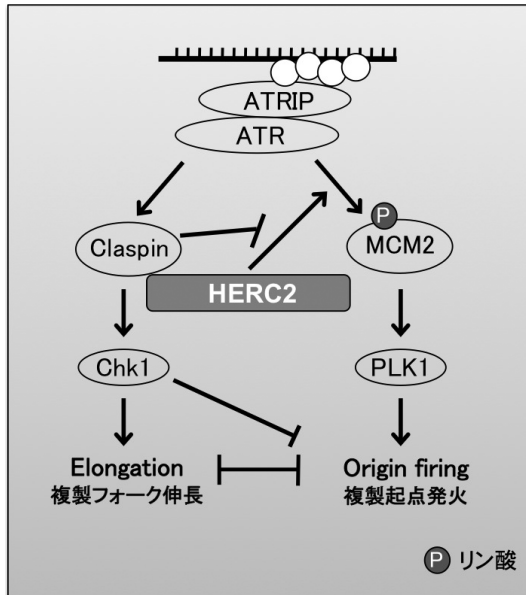


図6 HERC2によるDNA複製速度調節のモデル図

一方、ClaspinとHERC2の通常のDNA複製の中での役割についてDNA combing法を用いて検討した結果、HERC2はClaspin抑制時に複製DNAの伸長を抑制し、複製起点の発火を促進することによって、S期の進行を制御していることがわかった³⁸⁾。複製ストレスによってATR結合タンパク質ATRIPとHERC2の結合が強くなること、HERC2の抑制により複製ストレス後のATRによるMCM2のリン酸化が抑制されることから、HERC2は複製ストレス時のATRによるMCM2のリン酸化を促進することによって、起点発火を促進し、複製DNAの伸長を抑制していると考えられる(図6)。

4. BRCA1のE3活性

BRCA1のN末端とBARD1のN末端はRING二量体型のE3を形成する^{4,5)}(図2)。この二量体はBRCA1のほとんどの複合体にコア複合体として存在することから^{11,35)}、BRCA1の機能において何らかの重要な役割を果たしていることが示唆されるが、この活性が報告されて10年以上を経た今でも、その役割については確立した定説はない。

BARD1がBRCA1のタンパク質安定化および核移行に必須なこと^{4,6,39)}、また、BRCA1遺伝子、BARD1遺伝子およびBRCA1/BARD1両遺伝子のコンディショナルノックアウトマウスが全て同じ浸透率、同じ潜伏期間、同じ組織型で乳がんを生じることから⁴⁰⁾、BRCA1の腫瘍抑制能にBARD1が必要であることは明確である。一方、BRCA1 RINGフィンガーのミスセンス変異には家族性乳がんの原因となるものが多数あるが、その多くはE3活性が阻害されると同時にBARD1との結合が阻害される。したがって、E3活性のがん抑制における意義を解析するためには

C61Gなど⁴¹⁾、BARD1との結合が阻害されるタイプの変異とBARD1との結合が保たれたままE3活性が低下する変異を分けて考える必要がある。活性のみを死活させる変異の中で最もよく解析されているのは結晶構造解析からBRCA1のE2結合が阻害される変異として同定されたI26Aである⁵⁾(図2)。

ホモ接合性I26A変異のあるマウスES細胞ではHRが正常に機能することが報告されていたが⁴¹⁾、最近このマウスでは精子形成不全と体重減少以外には表現型はなく、複数の乳がん発症モデルにおいて野生型と同等にしか乳がんが発症せず、MEF細胞におけるHRも正常に機能することが報告された⁴²⁾。一方で、E3活性が腫瘍抑制に必要であることは多くの論文で示されており、最近では、ヒトで乳がん易罹患性を生じるT37R変異細胞を用いた実験で、BRCA1のE3活性がヒストンH2A(Lys119残基)のユビキチン化を介してサテライト領域のヘテロクロマチン形成に必要であることが報告されている⁴³⁾。興味あることにC末端にユビキチンを1分子連結させたH2A-ユビキチン融合タンパク質がBRCA1欠損によるヘテロクロマチン形成不全とHR不全をレスキューすることが示されている⁴³⁾。ヒトではBARD1との結合が保たれたままE3活性が低下するRINGフィンガーのミスセンス変異が家族性乳がんの原因となることが以前より報告されている⁴⁴⁾。

なぜこのような矛盾が生じるかはわかっていないが、ヒトとマウスの違いも要因としてあげられる。例えばBRCA1のヘテロ欠損はヒトでは乳がんの原因となるが、それ単独ではマウスで乳がんを発症しない。これらの事実を総合して考えると、BRCA1 E3活性のHRに対するインパクトはそれほど大きくはないものの、マウスではがんが発症しないがヒトでは発症するような、より限定的な役割をカバーしている可能性が考えられる。このような可能性はいくつか考えられるが、著者らはE3活性がより限られたタイプの損傷に対する修復に特化して働くこと、あるいはヘテロクロマチンにおけるHRに特化して働くことなどを想定している。また、I26A変異はE3活性を著明に低下させるものの、低い活性は保たれていることもマウスで表現型が出なかった原因の一つとして指摘されている⁴⁵⁾。

BRCA1 E3活性のHRにおける意義を考える上では基質の同定が大きな手がかりになるが、*bona-fide*な基質として誰もが認めるものは現時点では見つかっていない。その背景にはBRCA1-BARD1によるユビキチン鎖がK48鎖とは限らず、K6鎖およびK63鎖を触媒することから^{46,47)}、その作用を基質の安定性では判定できない点があげられる。報告されているものの多くは状況証拠と*in vitro*および過剰発現による*in vivo*のユビキチン化によって基質の候補と考えられている。その中でHR経路ではCtIP⁴⁸⁾とNucleophosmin(NPM1, B23)が候補としてあげられる。

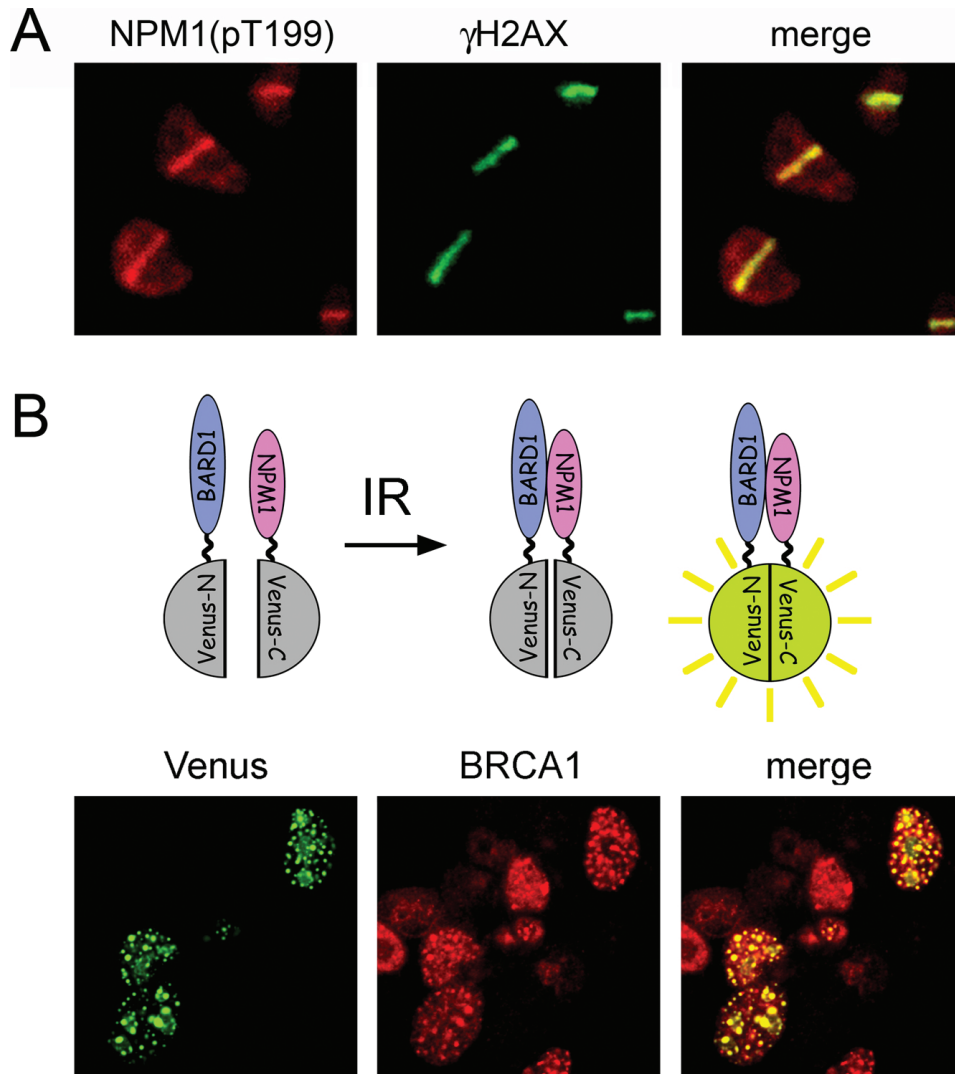


図7 NPM1のDNA二本鎖切断への集積

(A) HeLa細胞DNAにBrdUを取り込ませた後、レーザーマイクロビームを照射。DNA二本鎖切断部位に集積したT199リン酸化NPM1を γ H2AXとの二重染色にて検出した。

(B) 蛍光タンパク質VenusをN末端側とC末端側に二分割し、それぞれBARD1およびNPM1に融合させたcDNAを作製。293T細胞に過剰発現させた後、放射線(5Gy)を照射。BRCA1が局在するDNA二本鎖切断部位におけるNPM1とBARD1の結合をVenusの核内fociとして検出した。

NPM1はBRCA1-BARD1の基質の質量分析計を用いた二つの異なったスクリーニング法で同時に同定された⁴⁹⁾、最近の研究結果からThr199残基がリン酸化した(pT199) NPM1がDSB局所に集積することが明らかとなった⁵⁰⁾(図7A)。放射線照射によって生じるpT199-NPM1の核内fociがRNF8、RNF168あるいはUbc13の抑制によって消失すること、*in vitro*にてNPM1がT199のリン酸化依存的にK63鎖に結合することからNPM1はRNF8とRNF168によって生じたK63鎖によってDSBにリクルートされるものと考えられる⁵⁰⁾(図4)。また、NPM1の野生型を抑制しT199Aをadd-backした細胞では核内RAD51 fociの遷延化とDNA損傷修復阻害が生じることからNPM1

の集積はDSB修復に重要な役割を果たしているものと思われる。また、放射線照射後にNPM1とBARD1が損傷局所で会合することから⁵⁰⁾(図7B)、基質である可能性が高いと考えている。NPM1は転座によって生じるNPM-ALK、NPM-MLF1、NPM1-PAR α などの融合タンパク質、さらにC末端変異が急性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群あるいは未分化大細胞型リンパ腫の原因となることから血液腫瘍領域では臨床的に非常に重要な遺伝子である⁵¹⁾。また、乳がんを始め多くの固形がんでも発現異常を認め、がん遺伝子とがん抑制遺伝子の両方の側面を持つことがわかっている。NPM1およびそのユビキチン化のHRにおける役割を解明することが重要な課題であるが、NPM1のヒ

ストンシャペロン機能⁵²⁾が関係しているものと思われ、ヘテロクロマチンにおける損傷修復などでの働きに興味を持たれる。

5. BRCA1 と臨床

家族性乳がんは全乳がんのおよそ5~10%で、日本乳癌学会の調査では二親等以内に乳がんの家族歴をもつ症例は8.8%である。日本、欧米ともにこのうちの約4分の1程度がBRCA1あるいはBRCA2の変異に起因している。乳がん全体の1~2%程度がBRCA1に起因するということと考えるとインパクトが低いような印象を与えるが、乳がんは増加傾向で米国では7人に1人、日本でも約20人に1人の女性が乳がん罹患することを考えると決して低い数字とは言えない。それに加えて、①遺伝子異常がわかった場合に乳がん・卵巣がんが発症していなくても乳房切除術を含めた予防的な治療が行われること、②乳がんの10~15%を占める特に予後の悪いサブタイプであるBasal-like乳がんがBRCA1遺伝子異常あるいは他の原因によるBRCA1の機能不全によって生じること、さらに③BRCA1の機能不全が治療の標的となることから、現在乳がんおよび卵巣がんの臨床でBRCA1は非常に重要なテーマとなっている。

1) 家族性乳がん・卵巣がんの予防的治療

BRCA1およびBRCA2変異の浸透率は高く、変異キャリアーは60歳までに約70%が乳がん、約30%が卵巣がんを発症するため、家族歴をきっかけに生殖細胞系列(germ-line)変異がわかった女性には何らかの予防的措置が考慮される必要がある。

予防的両側乳房切除および卵巣切除は20年におよぶ臨床試験の結果から、現在では確立した治療法となっている。手術の時期が遅いと予防効果は100%ではなく、転移として発症する症例があり、乳房切除は25歳、卵巣切除は40歳がおおよそ目安となっている。最近の欧米の22施設におけるBRCA1/BRCA2変異2482例の多施設共同前向きコホート研究では乳房切除術を受けた247人のうち3.65年の経過観察で乳がんが1例も発見されていないのに対して、乳房切除を受けていない1,372人のうち98人、約7%が4.29年のうちに乳がんを発症している⁵³⁾。また、卵巣切除も乳がんによる死亡率を3分の1、卵巣がんによる死亡率を約7分の1に減らす効果があった⁵³⁾。

卵巣切除の代替としてタモキシフェンによる抗エストロゲン療法の効果が報告されているが、BRCA2乳がんでは効果を認めているものの、35歳から投与した場合にはBRCA1乳がんでは効果を認めていない⁵⁴⁾。これはBRCA1によって発症する乳がんが、早期のうちにエストロゲン感受性のないがんに変化することと関連する可能性が指摘されている。タモキシフェンの長期投与は経済的な負担やコ

ンプライアンスの問題から現在確立した治療とはなっていない。一方、予防的手術の代わりにより頻繁なスクリーニングを行った場合の予後が解析されてきたが、最近では、25歳から1年に1回のMRIとマンモグラフィーを行うことで、25歳での乳房切除を回避できることが報告されている⁵⁵⁾。

日本では欧米に比較して法整備の遅れなどもあり、BRCA変異の診断、治療が遅れているが、最近になり多くの施設で遺伝子検査が開始されるようになってきており、これに伴って今後適切な治療選択の必要性が高まるものと思われる。

2) Basal-like 乳がん

乳がんの治療戦略は従来の臨床病理学的な情報を中心としたものから、分子生物学的な情報を重視したものへとシフトしてきている。その中でも現在、個々の患者にあった標準治療を行う上で特に重要視されているのがcDNAマイクロアレイによる遺伝子発現プロファイル解析から生まれたサブタイプ分類である^{56,57)}。主にLuminal A, Luminal B, HER2, Basal-likeの四つに分類されるが、このうちのBasal-likeタイプがBRCA1の機能不全によって生じることがわかっている。Basal-like乳がんはエストロゲンレセプター陰性、プロゲステロンレセプター陰性、HER2陰性で、従来より免疫組織学的にトリプルネガティブと呼ばれている乳がんの多くがこの群に含まれる。乳がん全体の10~15%を占めるが、他のタイプがホルモン療法やHER2標的療法で飛躍的に予後が改善してきているのに対してBasal-like乳がんは悪性度が高く、依然として予後の悪いがんである。

Basal-like乳がんの原因としてはBRCA1変異による家族性のものに加え、散発性のものに関してはタンパク質レベルでの不活性化⁵⁸⁾やmicroRNA(miR-182)⁵⁹⁾の関与が報告されている。また、マウスモデルではBRCA1やBARD1の乳腺上皮特異的なコンディショナルノックアウトマウスによってBasal-like乳がんが生じることが証明されている⁴⁰⁾。

3) BRCA1 機能不全と非がん遺伝子中毒

BRCA1変異乳がんあるいはBasal-like乳がんにおいてBRCA1の機能不全によって生じるHR不全が治療の標的として注目されている。がんの分子標的治療や内分泌療法は、がんが特異的に発現するタンパク質を標的とするものである。これに対して化学療法の多くはがんのみならず、正常細胞も保有する機能を標的としている。したがって、どのようにしてがんの特異的な作用をもたらすかが問題となる。非がん遺伝子中毒とはある経路が変異により不活化したがん細胞が、それを補完するもう一つの経路に依存して生存している状態で⁶⁰⁾、補完する経路を遮断すればがんを特異的に殺すことができる。この方法が有効であること

は HR 不全のある *BRCA1/2* 変異乳がんおよび卵巣がんに対し、これを補完する DNA 修復経路を抑制する poly (ADP-ribose) ポリメラーゼ (PARP) 阻害剤を用いた合成致死性において提唱され^{61, 62)}、実際に多くの臨床試験が行われ、*BRCA1/2* 変異乳がんや卵巣がんでは有効性が確認されている^{63, 64)}。PARP1 および PARP2 は BER (前述) などの DNA 一本鎖損傷の修復に必須で、正常な細胞では PARP が抑制されると一本鎖損傷は S 期に HR を伴う PRR によってエラーなしに修復可能であるが^{61, 62)}、*BRCA1/2* 変異を有するがんではこの両経路の機能不全によって、エラーの多い NHEJ や緊急避難的にさらにエラーの多い alt-NHEJ (前述) による修復が起こる⁶⁵⁾。また、PARP は alt-NHEJ 経路でも重要な役割を果たしていることが報告されており、緊急避難経路を絶たれて細胞が死滅するというモデルも考えられる。

6. お わ り に

HR 経路を制御する修復因子は、これまでに報告されているだけで少なくとも 30~40 以上が存在し、それぞれ非がん遺伝子中毒を利用したがん治療における標的あるいは予見因子になりうる。これら修復因子のがんにおける異常と抗がん剤に対応する役割を解明することはがんの治療戦略上、非常に重要である。*BRCA1* および *BRCA2* の変異によって生じた乳がん、卵巣がんにおいて、プラチナ製剤や PARP 阻害剤に起因するこれらの遺伝子の二度目の変異によってタンパク質機能が回復することが、同薬剤の耐性につながる^{66~68)} ことなどを考えても、今後化学療法の実効性を予想するために HR 経路の異常の有無は欠かせない情報となっていくものと思われる。

文 献

- Ciccia, A. & Elledge, S.J. (2010) *Mol. Cell*, **40**, 179–204.
- Hall, J.M., Lee, M.K., Newman, B., Morrow, J.E., Anderson, L.A., Huey, B., & King, M.C. (1990) *Science*, **250**, 1684–1689.
- Miki, Y., Swensen, J., Shattuck-Eidens, D., Futreal, P.A., Harshman, K., Tavtigian, S., Liu, Q., Cochran, C., Bennett, L. M., Ding, W., et al. (1994) *Science*, **266**, 66–71.
- Hashizume, R., Fukuda, M., Maeda, I., Nishikawa, H., Oyake, D., Yabuki, Y., Ogata, H., & Ohta, T. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 14537–14540.
- Brzovic, P.S., Keefe, J.R., Nishikawa, H., Miyamoto, K., Fox, D. 3rd, Fukuda, M., & Ohta, T., Klevit, R. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 5646–5651.
- Fabbro, M., Rodriguez, J.A., Baer, R., & Henderson, B.R. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 21315–21324.
- Yu, X., Chini, C.C., He, M., Mer, G., & Chen, J. (2003) *Science*, **302**, 639–642.
- Manke, I.A., Lowery, D.M., Nguyen, A., & Yaffe, M.B. (2003) *Science*, **302**, 636–639.
- Wang, B., Matsuoka, S., Ballif, B.A., Zhang, D., Smogorzewska, A., Gygi, S.P., & Elledge, S.J. (2007) *Science*, **316**, 1194–1198.
- Zhang, F., Ma, J., Wu, J., Ye, L., Cai, H., Xia, B., & Yu, X. (2009) *Curr. Biol.*, **19**, 524–529.
- Huen, M.S., Sy, S.M., & Chen, J. (2010) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **11**, 138–148.
- Chen, L., Nievera, C.J., Lee, A.Y., & Wu, X. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 7713–7720.
- Yun, M.H. & Hiom, K. (2009) *Nature*, **459**, 460–463.
- Kolas, N.K., Chapman, J.R., Nakada, S., Ylanko, J., Chahwan, R., Sweeney, F.D., Panier, S., Mendez, M., Wildenhain, J., Thomson, T.M., Pelletier, L., Jackson, S.P., & Durocher, D. (2007) *Science*, **318**, 1637–1640.
- Mailand, N., Bekker-Jensen, S., Fastrup, H., Melander, F., Bartek, J., Lukas, C., & Lukas, J. (2007) *Cell*, **131**, 887–900.
- Bekker-Jensen, S., Rendtlew Danielsen, J., Fugger, K., Gro-mova, I., Nerstedt, A., Lukas, C., Bartek, J., Lukas, J., & Mailand, N. (2010) *Nat. Cell Biol.*, **12**, 80–86.
- Nakada, S., Tai, I., Panier, S., Al-Hakim, A., Iemura, S., Juang, Y.C., O'Donnell, L., Kumakubo, A., Munro, M., Sicheri, F., Gingras, A.C., Natsume, T., Suda, T., & Durocher, D. (2010) *Nature*, **466**, 941–946.
- Doil, C., Mailand, N., Bekker-Jensen, S., Menard, P., Larsen, D.H., Pepperkok, R., Ellenberg, J., Panier, S., Durocher, D., Bartek, J., Lukas, J., & Lukas, C. (2009) *Cell*, **136**, 435–446.
- Stewart, G.S., Panier, S., Townsend, K., Al-Hakim, A.K., Kolas, N.K., Miller, E.S., Nakada, S., Ylanko, J., Olivarius, S., Mendez, M., Oldreive, C., Wildenhain, J., Tagliaferro, A., Pelletier, L., Taubenheim, N., Durandy, A., Byrd, P.J., Stankovic, T., Taylor, A.M., & Durocher, D. (2009) *Cell*, **136**, 420–434.
- Sobhan, B., Shao, G., Lilli, D.R., Culhane, A.C., Moreau, L. A., Xia, B., Livingston, D.M., & Greenberg, R.A. (2007) *Science*, **316**, 1198–1202.
- Kim, H., Chen, J., & Yu, X. (2007) *Science*, **316**, 1202–1205.
- Sato, Y., Yoshikawa, A., Mimura, H., Yamashita, M., Yamagata, A., & Fukai, S. (2009) *EMBO J.*, **28**, 2461–2468.
- Wang, B., Hurov, K., Hofmann, K., & Elledge, S.J. (2009) *Genes Dev.*, **23**, 729–739.
- Hu, Y., Scully, R., Sobhan, B., Xie, A., Shestakova, E., & Livingston, D.M. (2011) *Genes Dev.*, **25**, 685–700.
- Coleman, K.A. & Greenberg, R.A. (2011) *J. Biol. Chem.*, **286**, 13669–13680.
- Sy, S.M., Huen, M.S., & Chen, J. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 7155–7160.
- Pellegrini, L., Yu, D.S., Lo, T., Anand, S., Lee, M., Blundell, T.L., & Venkitaraman, A.R. (2002) *Nature*, **420**, 287–293.
- Goodarzi, A.A., Noon, A.T., Deckbar, D., Ziv, Y., Shiloh, Y., Löbrich, M., & Jeggo, P.A. (2008) *Mol. Cell*, **31**, 167–177.
- Pathania, S., Nguyen, J., Hill, S.J., Scully, R., Adelmant, G.O., Marto, J.A., Feunteun, J., & Livingston, D.M. (2011) *Mol. Cell*, **44**, 235–251.
- Cortez, D., Wang, Y., Qin, J., & Elledge, S.J. (1999) *Science*, **286**, 1162–1166.
- Foray, N., Marot, D., Gabriel, A., Randrianarison, V., Carr, A. M., Perricaudet, M., Ashworth, A., & Jeggo, P. (2003) *EMBO J.*, **22**, 2860–2871.
- Tibbetts, R.S., Cortez, D., Brumbaugh, K.M., Scully, R., Livingston, D., Elledge, S.J., & Abraham, R.T. (2000) *Genes Dev.*, **14**, 2989–3002.
- Yarden, R.I., Pardo-Reoyo, S., Sgagias, M., Cowan, K.H., & Brody, L.C. (2002) *Nat. Genet.*, **30**, 285–289.

- 34) Lin, S.Y., Li, K., Stewart, G.S., & Elledge, S.J. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 6484–6489.
- 35) Greenberg, R.A., Sobhian, B., Pathania, S., Cantor, S.B., Nakatani, Y., & Livingston, D.M. (2006) *Genes Dev.*, **20**, 34–46.
- 36) Liu, S., Bekker-Jensen, S., Mailand, N., Lukas, C., Bartek, J., & Lukas, J. (2006) *Mol. Cell Biol.*, **26**, 6056–6064.
- 37) Wu, W., Sato, K., Koike, A., Nishikawa, H., Koizumi, H., Venkitaraman, A.R., & Ohta, T. (2010) *Cancer Res.*, **70**, 6384–6392.
- 38) Izawa, N., Wu, W., Sato, K., Nishikawa, H., Kato, A., Boku, N., Itoh, F., & Ohta, T. (2011) *Cancer Res.*, **71**, 5621–5625.
- 39) Joukov, V., Chen, J., Fox, E.A., Green, J.B., & Livingston, D. M. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 12078–12083.
- 40) Shakya, R., Szabolcs, M., McCarthy, E., Ospina, E., Basso, K., Nandula, S., Murty, V., Baer, R., & Ludwig, T. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 7040–7045.
- 41) Reid, L.J., Shakya, R., Modi, A.P., Lokshin, M., Cheng, J.T., Jasin, M., Baer, R., & Ludwig, T. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 20876–20881.
- 42) Shakya, R., Reid, L.J., Reczek, C.R., Cole, F., Egli, D., Lin, C. S., deRoos, D.G., Hirsch, S., Ravi, K., Hicks, J.B., Szabolcs, M., Jasin, M., Baer, R., & Ludwig, T. (2011) *Science*, **334**, 525–528.
- 43) Zhu, Q., Pao, G.M., Huynh, A.M., Suh, H., Tonnu, N., Nederlof, P.M., Gage, F.H., & Verma, I.M. (2011) *Nature*, **477**, 179–184.
- 44) Morris, J.R., Pangon, L., Boutell, C., Katagiri, T., Keep, N.H., & Solomon, E. (2006) *Hum. Mol. Genet.*, **15**, 599–606.
- 45) O'Donovan, P.J. & Livingston, D.M. (2010) *Carcinogenesis*, **31**, 961–967.
- 46) Nishikawa, H., Ooka, S., Sato, K., Arima, K., Okamoto, J., Klevit, R.E., Fukuda, M., & Ohta, T. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 3916–3924.
- 47) Christensen, D.E., Brzovic, P.S., & Klevit, R.E. (2007) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **14**, 941–948.
- 48) Yu, X., Fu, S., Lai, M., Baer, R., & Chen, J. (2006) *Genes Dev.*, **20**, 1721–1726.
- 49) Sato, K., Hayami, R., Wu, W., Nishikawa, T., Nishikawa, H., Okuda, Y., Ogata, H., Fukuda, M., & Ohta, T. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 30919–30922.
- 50) Koike, A., Nishikawa, H., Wu, W., Okada, Y., Venkitaraman, A.R., & Ohta, T. (2010) *Cancer Res.*, **70**, 6746–6756.
- 51) Grisendi, S., Mecucci, C., Falini, B., & Pandolfi, P.P. (2006) *Nat. Rev. Cancer*, **6**, 493–505.
- 52) Nambodiri, V.M., Akey, I.V., Schmidt-Zachmann, M.S., Head, J.F., & Akey, C.W. (2004) *Structure*, **12**, 2149–2160.
- 53) Domchek, S.M., Friebel, T.M., Singer, C.F., Evans, D.G., Lynch, H.T., Isaacs, C., Garber, J.E., Neuhausen, S.L., Matloff, E., Eeles, R., Pichert, G., Van t' veer, L., Tung, N., Weitzel, J. N., Couch, F.J., Rubinstein, W.S., Ganz, P.A., Daly, M.B., Olopade, O.I., Tomlinson, G., Schildkraut, J., Blum, J.L., & Rebbeck, T.R. (2010) *JAMA*, **304**, 967–975.
- 54) King, M.C., Wieand, S., Hale, K., Lee, M., Walsh, T., Owens, K., Tait, J., Ford, L., Dunn, B.K., Costantino, J., Wickerham, L., Wolmark, N., & Fisher, B. (2001) *JAMA*, **286**, 2251–2256.
- 55) Kurian, A.W., Sigal, B.M., & Plevritis, S.K. (2010) *J. Clin. Oncol.*, **28**, 222–231.
- 56) Perou, C.M., Sørlie, T., Eisen, M.B., van de Rijn, M., Jeffrey, S.S., Rees, C.A., Pollack, J.R., Ross, D.T., Johnsen, H., Akslen, L.A., Fluge, O., Pergamenschikov, A., Williams, C., Zhu, S.X., Lønning, P.E., Børresen-Dale, A.L., Brown, P.O., & Botstein, D. (2000) *Nature*, **406**, 747–752.
- 57) Sørlie, T., Tibshirani, R., Parker, J., Hastie, T., Marron, J.S., Nobel, A., Deng, S., Johnsen, H., Pesich, R., Geisler, S., Demeter, J., Perou, C.M., Lønning, P.E., Brown, P.O., Børresen-Dale, A.L., & Botstein, D. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 8418–8423.
- 58) Turner, N.C., Reis-Filho, J.S., Russell, A.M., Springall, R.J., Ryder, K., Steele, D., Savage, K., Gillett, C.E., Schmitt, F.C., Ashworth, A., Tutt, A.N. (2007) *Oncogene*, **26**, 2126–2132.
- 59) Moskwa, P., Buffa, F.M., Pan, Y., Panchakshari, R., Gottipati, P., Muschel, R.J., Beech, J., Kulshrestha, R., Abdelmohsen, K., Weinstock, D.M., Gorospe, M., Harris, A.L., Helleday, T., & Chowdhury, D. (2011) *Mol. Cell*, **41**, 210–220.
- 60) Luo, J., Solimini, N.L., & Elledge, S.J. (2009) *Cell*, **136**, 823–837.
- 61) Bryant, H.E., Schultz, N., Thomas, H.D., Parker, K.M., Flower, D., Lopez, E., Kyle, S., Meuth, M., Curtin, N.J., & Helleday, T. (2005) *Nature*, **434**, 913–917.
- 62) Farmer, H., McCabe, N., Lord, C.J., Tutt, A.N., Johnson, D.A., Richardson, T.B., Santarosa, M., Dillon, K.J., Hickson, I., Knights, C., Martin, N.M., Jackson, S.P., Smith, G.C., & Ashworth, A. (2005) *Nature*, **434**, 917–921.
- 63) Audeh, M.W., Carmichael, J., Penson, R.T., Friedlander, M., Powell, B., Bell-McGuinn, K.M., Scott, C., Weitzel, J.N., Oaknin, A., Loman, N., Lu, K., Schmutzler, R.K., Matulonis, U., Wickens, M., & Tutt, A. (2010) *Lancet*, **376**, 245–251.
- 64) Tutt, A., Robson, M., Garber, J.E., Domchek, S.M., Audeh, M. W., Weitzel, J.N., Friedlander, M., Arun, B., Loman, N., Schmutzler, R.K., Wardley, A., Mitchell, G., Earl, H., Wickens, M., & Carmichael, J. (2010) *Lancet*, **376**, 235–244.
- 65) Patel, A.G., Sarkaria, J.N., & Kaufmann, S.H. (2011) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 3406–3411.
- 66) Edwards, S.L., Brough, R., Lord, C.J., Natrajan, R., Vatcheva, R., Levine, D.A., Boyd, J., Reis-Filho, J.S., & Ashworth, A. (2008) *Nature*, **451**, 1111–1115.
- 67) Sakai, W., Swisher, E.M., Karlan, B.Y., Agarwal, M.K., Higgins, J., Friedman, C., Villegas, E., Jacquemont, C., Farrugia, D.J., Couch, F.J., Urban, N., & Taniguchi, T. (2008) *Nature*, **451**, 1116–1120.
- 68) Swisher, E.M., Sakai, W., Karlan, B.Y., Wurz, K., Urban, N., & Taniguchi, T. (2008) *Cancer Res.*, **68**, 2581–2586.